(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 600 229**

(51) Int. CI.:

A61K 9/00 (2006.01)
A61K 9/51 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2009 E 09175794 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.07.2016 EP 2322142**

(54) Título: **Nanopartículas magnéticas biocompatibles para el tratamiento de glioblastomas**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
07.02.2017

(73) Titular/es:

HELMHOLTZ-ZENTRUM GEESTHACHT ZENTRUM FÜR MATERIAL- UND KÜSTENFORSCHUNG GMBH (100.0%)
Max-Planck-Strasse 1
21502 Geesthacht, DE

(72) Inventor/es:

MUCHA, BIRTE;
WILLUMEIT, REGINE y
LAMSZUS, KATRIN

(74) Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nanopartículas magnéticas biocompatibles para el tratamiento de glioblastomas

La presente invención se refiere al uso de nanopartículas magnéticas biocompatibles en la terapia de glioblastomas.

Estado de la técnica

El glioblastoma (*glioblastoma multiforme*) es el tumor cerebral maligno de aparición más frecuente en adultos. Aproximadamente del 15 al 30% de todos los tumores de cerebro son glioblastomas. El glioblastoma presenta similitudes de tejido fino con las células gliales del cerebro y por el muy mal pronóstico según la clasificación de la OMS de los tumores del sistema nervioso central se clasifica como grado IV. El tratamiento consiste en la reducción operativa de la masa tumoral, la radiación y la quimioterapia. Pero una cura definitiva no se puede conseguir en la actualidad. El tiempo de supervivencia medio es del orden de seis meses.

Los glioblastomas pueden producirse de forma totalmente nueva (*de novo*) o por una desdiferenciación progresiva de astrocitomas menos malignos. Por lo tanto, no es raro que los astrocitomas tratados se manifiesten en una recidiva como glioblastoma. Estos llamados glioblastomas secundarios aparecen más bien en pacientes más jóvenes.

Los glioblastomas se caracterizan por un crecimiento difuso, infliltrativo y muy rápido. Una mejora clínica a corto plazo se puede conseguir mediante el tratamiento con dexametasona del edema cerebral que existe prácticamente siempre. La operación neuroquirúrgica con la disminución (reducción) de la masa principal del tumor puede ralentizar el avance de la enfermedad, pero no puede evitarlo de forma duradera, porque prácticamente siempre hay células tumorales individuales que ya han atravesado por infiltración el tejido cerebral sano y haciendo imposible así una extirpación completa del tumor. Por lo tanto, para prolongar el tiempo de supervivencia sin recidiva y absoluto, la operación prácticamente siempre va seguida de radioterapia y frecuentemente también de quimioterapia.

Además de los tratamientos que ya se han mencionado, recientemente se emplean también nanopartículas magnéticas para la terapia de los glioblastomas. En este contexto se han usado nanopartículas magnéticas por ejemplo para la introducción dirigida de sustancias activas en células ("drug targeting") o para la destrucción de células patógenas en el campo alterno magnético (hipertermia).

Un procedimiento para la introducción de sustancias activas en células con la ayuda de nanopartículas multifuncionales bajo la influencia de un campo alterno magnético externo y para la destrucción de las células mediante hipertermia se describió en el documento WO 2005/065282 A2. Se describieron dos procedimientos para la destrucción de las células patógenas que se desarrollan ambos con la ayuda de un campo alterno magnético, a saber (1) la destrucción celular magnetomecánica y (2) la liberación magnéticamente activada de principios activos.

El uso de nanopartículas magnéticas como medio de contraste para el diagnóstico se describió en el documento DE 4428851 A1. Para ello se usan partículas magnéticas que contienen hierro y que eventualmente contienen coadyuvantes farmacéuticos y/o mediadores de adsorción. Para ello, se aplica un campo alterno magnético para la orientación y la reorientación de los dipolos magnéticos de las partículas.

Los productos implantables que contienen nanopartículas y su uso, especialmente para el postratamiento termoterapéutico tras la extirpación quirúrgica de tumores y carcinomas se describieron en el documento DE 10 2008 008 522 A1. Las nanopartículas empleadas tienen preferentemente un núcleo magnético, de forma especialmente preferible un núcleo superparamagnético, de manera que se calientan en un campo alterno magnético y de esta manera se pueden usar para la hipertermia. Los materiales preferibles son por ejemplo la maghemita, la magnetita, las aleaciones de hierro-níquel o las aleaciones de níquel-cobre.

El uso de microburbujas magnéticas para la emisión selectiva de principios activos terapéuticos se describió en el documento WO 2009/156743. Las microburbujas magnéticas se componen de un núcleo gaseoso y una envoltura líquida que contiene nanopartículas magnéticas, preferentemente nanopartículas ferromagnéticas tales como óxido de hierro. Mediante la aplicación de un campo alterno magnético, las microburbujas magnéticas se pueden introducir de forma dirigida en células.

La presente invención tiene el objetivo de proporcionar sustancias novedosas para el movimiento dirigido de glioblastomas. Se hará posible por primera vez el movimiento de las células en el campo magnético.

Descripción de la invención

El objetivo se consigue mediante nanopartículas magnéticas biocompatibles para el movimiento de glioblastomas en un campo magnético estático. Por nanopartículas magnéticas se entienden partículas magnetizables, cuyo tamaño hidrodinámico es inferior a 1 μm, generalmente inferior a 500 nm, situándose preferentemente en el intervalo de 5 nm a 300 nm, de forma especialmente preferible en el intervalo de 50 nm a 200 nm. El diámetro del núcleo es

preferentemente de 1 nm a 300 nm, de forma más preferible de 2 nm a 100 nm y especialmente de 3 nm a 50 nm. El tamaño de las nanopartículas magnéticas se sitúa por tanto en el intervalo del tamaño de una proteína (5 a 50 nm) o de un virus (20 a 450 nm).

Como partículas magnetizables entran en consideración en primer lugar metales así como óxidos del octavo grupo secundario del sistema periódico de los elementos. Preferentemente, el material del que se componen las nanopartículas magnéticas biocompatibles se selecciona de entre hierro (Fe), gadolinio (Gd) o sus óxidos. Los materiales especialmente preferibles son la magnetita o su forma oxidada, la maghemita.

El núcleo de las nanopartículas magnéticas preferentemente está envuelto por una envoltura, estando adsorbidas o quimiosorbidas en su superficie sustancias tensioactivas. Esta envoltura debe evitar que las partículas puedan aglomerarse o sedimentarse. Por la capa envolvente aumenta el diámetro total de las partículas que además aumenta adicionalmente por la capacidad de ligar agua de los materiales de envoltura. Por lo tanto, el diámetro total en solución acuosa se indica como diámetro hidrodinámico.

Como materiales de envoltura de las nanopartículas se pueden usar diferentes sustancias. Pero para el uso en el ámbito médico, estas deben ser biocompatibles para el ser humano. Como materiales de envoltura se usan preferentemente polímeros tales como dextrano, carboxidextrano, polietilenglicol, almidón o albúmina. Si como envoltura no se eligen polímeros, sino monómeros biomiméticos tales como lípidos, ácidos grasos, citrato, ácido mirístico o ácido láurico, es posible producir partículas aún más pequeñas.

Resultan especialmente preferibles las nanopartículas magnéticas biocompatibles, naturales, tales como los magnetosomas de bacterias magnetoactivas, que tienen la capacidad para la síntesis de partículas de magnetita intracelulares, encerradas por una membrana. En especial, se usan magnetosomas de *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1, *Magnetospirillium magnetotacticum, Magnetospirillium* espec. AMB-1, coccus magnético MC-1 o vibrio magnético MC-1. Las bacterias magnetotácticas son conocidas por el experto y se describen por ejemplo en Schüler, D., y Köhler, M. (1992) "The isolation of a new magnetic spirillum" Zentralbl. Mikrobiol. **147:** 150 a 151, Bazylinski, D.A., Frankel, R.B., y Jannasch, H.W. (1988) "Anaerobic magnetite production by a marine, magnetotactic bacterium" Nature **334:** 518 a 519, Kawaguchi, R., Burgess, J.G., y Matsunaga, T. (1992) "Phylogeny and 16s rRNA sequence of Magnetospirillum sp. AMB-1, an aerobic magnetic bacterium" Nucleic. Acids Res. **20:** 1140, Meldrum, F.C., Mann, S., Heywood, B.R., Frankel, R.B., y Bazylinski, D.A. (1993) "Electron-microscopy study of magnetosomes in a cultured coccoid magnetotactic bacterium" P. Roy. Soc. Lond. B. Bio. **251:** 231 a 236, Meldrum, F.C., Mann, S., Heywood, B.R., Frankel, R.B., y Bazylinski, D.A. (1993) "Electron-microscopy study of magnetosomes in 2 cultured vibrioid magnetotactic bacteria" P. Roy. Soc. Lond. B. Bio. **251:** 237 a 242 así como Schleifer, K., Schüler, D., Spring, S., Weizenegger, M., Amann, R., Ludwig, W. y Köhler, M. (1991) "The genus Magnetospirillum gen. nov., description of Magnetospirillum gryphiswaldense sp. nov. and transfer of Aquaspirillum magnetotacticum to Magnetospirillum magnetotacticum comb. nov." Syst. Appl. Microbiol. **14:** 379 a 385, a los que se hace referencia aquí.

En el diagnóstico de procesos patológicos, las nanopartículas magnéticas según la invención ya se están empleando desde hace unos años. De gran importancia es su uso como medio de contraste en la tomografía por resonancia magnética (TRM). Los medios de contraste para TRM permitidos actualmente para el hígado y el bazo están disponibles bajo los nombres comerciales de Endorem® o Resovist®, con los que se dejan representar bien las metástasis de hígado y tumores de hígado poco diferenciados a los que faltan macrófagos. Resovist® es un ferrofluido con un diámetro hidrodinámico de aprox. 60 nm y un diámetro de núcleo de 3 nm a 15 nm. Mientras tanto están disponibles ferrofluidos más recientes que se componen de partículas más grandes con diámetros hidrodinámicos de 120 nm a 150 nm.

Las nanopartículas magnéticas biocompatibles según la invención son absorbidas de forma especialmente preferible por las células.

Según la invención, las nanopartículas magnéticas biocompatibles se usan para el movimiento dirigido de las células cancerosas migratorias en un campo magnético externo (*magnetotaxis*), para hacerlas accesibles de forma colectiva en una intervención quirúrgica o hipertermia.

Una forma de aplicación posible de nanopartículas magnéticas consiste en la administración directamente al cerebro para evitar que las nanopartículas sean retenidas por la barrera hematoencefálica. Después de la administración, las células cargadas con partículas pueden ser dirigidas entonces hacia la región objetivo mediante la aplicación de un campo magnético externo.

Otra posibilidad preferible consiste en acoplar anticuerpos específicos a las nanopartículas que se ligan a antígenos en la región afectada. Los anticuerpos se ligan preferentemente de manera específica a antígenos de superficie de células de glioblastoma, sin que se vea afectado el tejido sano.

REIVINDICACIONES

1. Nanopartículas magnéticas biocompatibles para la aplicación en la terapia de glioblastomas en un campo magnético estático, usándose las nanopartículas magnéticas biocompatibles para el movimiento dirigido de las células cancerosas migratorias en un campo magnético externo (magnetotaxis) para hacerlas accesibles de forma colectiva para una intervención quirúrgica o hipertermia.

2. Nanopartículas según la reivindicación 1, **caracterizadas por que** presentan un tamaño hidrodinámico inferior a 1 μm, preferentemente en el intervalo de 5 nm a 300 nm, de manera especialmente preferible el intervalo de 50 nm a 200 nm.

3. Nanopartículas según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizadas por que** presentan un diámetro de núcleo de 1 nm a 300 nm, preferentemente de 3 nm a 50 nm.

4. Nanopartículas según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizadas por que** se seleccionan de entre hierro (Fe), gadolinio (GD) o sus óxidos.

5. Nanopartículas según la reivindicación 4, **caracterizadas por que** están seleccionadas de entre magnetita o maghemita.

6. Nanopartículas según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizadas por que** presentan un material de envoltura.

7. Nanopartículas según la reivindicación 6, **caracterizadas por que** el material de envoltura está seleccionado de entre polímeros tales como dextrano, carboxidextrano, polietilenglicol, almidón, albúmina o de entre un material biomimético tales como lípidos, ácidos grasos tales como ácido mirístico o ácido láurico, o citrato.

8. Nanopartículas según una de las reivindicaciones 6 o 7, **caracterizadas por que** el material de envoltura contiene adicionalmente anticuerpos.

9. Nanopartículas según la reivindicación 8, **caracterizadas por que** el o los anticuerpos se ligan específicamente a antígenos de superficie de células de glioblastoma.

10. Nanopartículas según una de las reivindicaciones anteriores, **caracterizadas por que** son magnetosomas de bacterias magnetostáticas.

11. Nanopartículas según la reivindicación 6, **caracterizadas por que** los magnetosomas pueden obtenerse a partir de *Magnetospirillum gryphiswaldense* MSR-1, *Magnetospirillium magnetotacticum*, *Magnetospirillium* spec. AMB-1, coccus magnético MC-1 o vibrio magnético MC-1.